

主論文

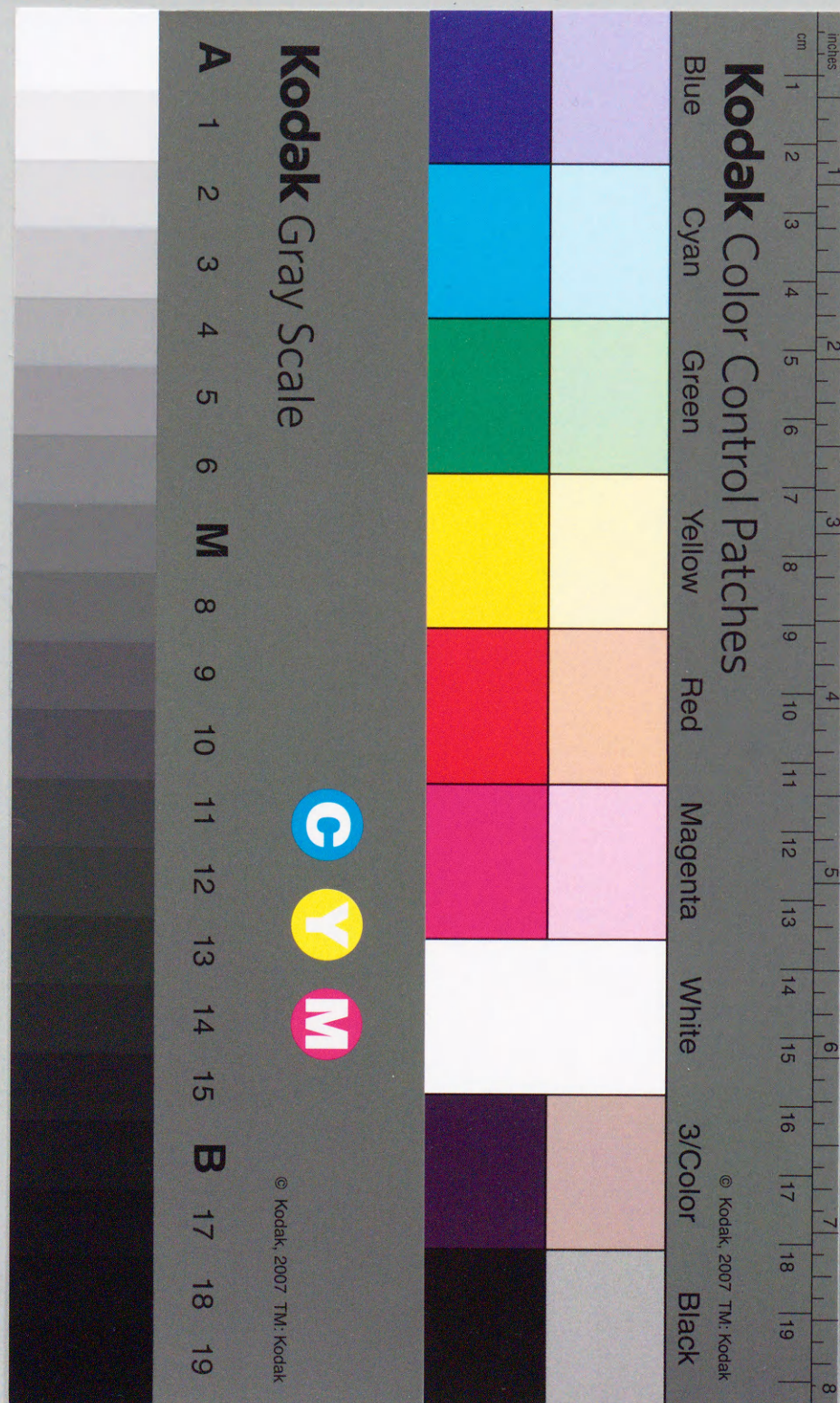
外眼筋の機械的特性に関する研究 第1報 白色家兎における受動的伸長—張力特性

岡 野 正 樹
岡山大学医学部眼科学教室

Study on Mechanical Properties of Extraocular Muscles I. Passive Length-Tension Curves in Rabbits

Masaki Okano
Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

日本眼科学会雑誌 96(3) : 295—301, 平成4年
Acta Soc. Ophthalmol. Jpn. 96(3) : 295—301, 1992



外眼筋の機械的特性に関する研究

第1報 白色家兎における受動的伸長—張力特性

岡野 正樹

岡山大学医学部眼科学教室

要 約

外眼筋の張力を比較するために外眼筋張力測定装置を用いて眼球付着部で切り離した白色家兎の外眼筋の伸長—張力曲線を連続的に記録した。本装置は今回新たに開発したもので受動的に引き伸ばされた外眼筋の張力を測定するひずみゲージと、小型モーターと連動し変位量を検出するポテンシオメーターからなる。上下直筋と斜筋を牽引した場合の変位量と張力の間には指数関数的な関係がみられた。粘弾性抵抗と牽引速度の間には有意な差はなかった。上直筋の粘弾性抵抗は下直筋、上下斜筋より有意に大きく、下斜筋のそれは下直筋より有意に大きかった。下直筋と下斜筋の伸長性は上直筋や上斜筋より有意に大きかった。(日眼会誌 96: 295—301, 1992)

キーワード：伸長—張力曲線，粘弾性抵抗，外眼筋，白色家兎，ひずみゲージ

Study on Mechanical Properties of Extraocular Muscles

I. Passive Length-Tension Curves in Rabbits

Masaki Okano

Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

Abstract

Length-tension curves of detached eye muscles were continuously measured in albino rabbits with a length and tension measuring device developed by the author. The device consists of a strain gauge for measuring passive length-tension, and a position encoder equipped with an eddy current motor. In extending vertical rectus and oblique muscles, an exponential relation was found between length and tension. There was no significant difference between the passive load and extending velocity. The load of the superior rectus muscle was significantly greater than those of the other 3 vertical muscles, and that of the inferior oblique muscle was significantly greater than that of inferior rectus muscle. Each compliance of the inferior rectus muscle or the inferior oblique muscle was significantly greater than that of the superior rectus muscle or the superior oblique muscle. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96: 295—301, 1992)

Key words: Length-tension curve, Passive load, Extraocular muscle, Albino rabbit, Strain gauge

別刷請求先：700 岡山市鹿田町2-5-1 岡山大学医学部眼科学教室 岡野 正樹
(平成3年6月7日受付，平成3年7月11日改訂受理)

Reprint requests to: Masaki Okano, M.D. Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School, 2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700, Japan

(Received June 7, 1991 and accepted in revised form July 11, 1991)

I 緒 言

斜視手術の際に外眼筋を眼球付着部で切り離し受動的に牽引した場合、筋によって張力に差があることをしばしば経験する。この時の張力は粘弾性抵抗 (passive load) と呼ばれ、外眼筋自身の収縮により発生する能動的張力 (active force) と共に眼球運動を規定する主要な末梢性機械因子である。これらを定量化し眼球運動モデルの解明が試みられている¹⁾が、従来の報告例^{2)~4)}の多くはヒト外眼筋を眼球付着部で切り離すことなく、外眼筋はそのままの状態に眼球結膜を鉗子等で把持し眼球を回転させた時の抵抗を測定するという、いわゆる forced duction test の定量化と酷似したものであった。その一方で、Simonsz ら⁵⁾は外眼筋を眼球付着部で切り離した後小型モーターで牽引するという精度の高い方法を発表した。しかしながら、これらの研究は人眼を対象としているため制約が多く、周囲組織の影響を受けない外眼筋単独のデータを得ることは容易ではなかった。そこで著者は外眼筋の構造が人眼に似ている白色家兎を用いて、眼球付着部で切り離した外眼筋の伸長—張力曲線を記録し、外眼筋の機械的特性について検討を行ったので報告する。

II 実験方法

1. 実験材料

実験動物には成熟白色家兎(体重 2.3~4.5 kg)16羽を用いた。

2. 実験手順

剃毛した耳静脈に 22 ゲージの静脈用カテーテル(エラストー針)を留置し耳静脈を確保した後、麻酔薬としてペントバルビタールナトリウム (0.4 ml/kg)を約 3 分かけて静注した。家兎固定台に伏臥位にて四肢および頭部を十分に固定した後、上眼瞼または下眼瞼を、2%キシロカイン皮下注射後に切除した。次に、眼球結膜を角膜輪部近くで切開し外眼筋を露出させた。外眼筋を周囲組織から十分に剥離し、4-0 シルク糸を斜視手術の要領で眼筋の先端部にかけた後、眼球付着部で切断した。4-0 シルク糸 (3.0 cm) はケブラート糸 (27.0 cm) を介して外眼筋張力測定装置に接続し、張力 0 g から最大張力 50 g あるいは 100 g に達するまで牽引した後、再び張力 0 g に戻るまでの伸長—張力曲線を記録した。

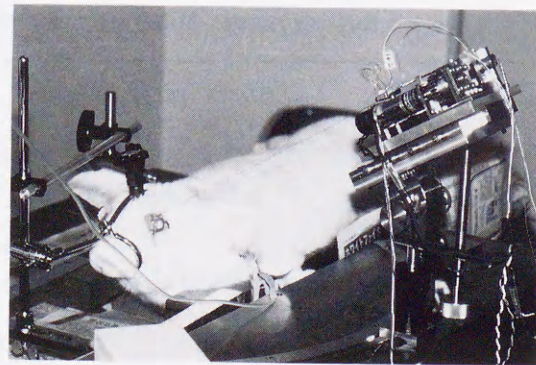


図1 上直筋を用いた実際の測定の様子。

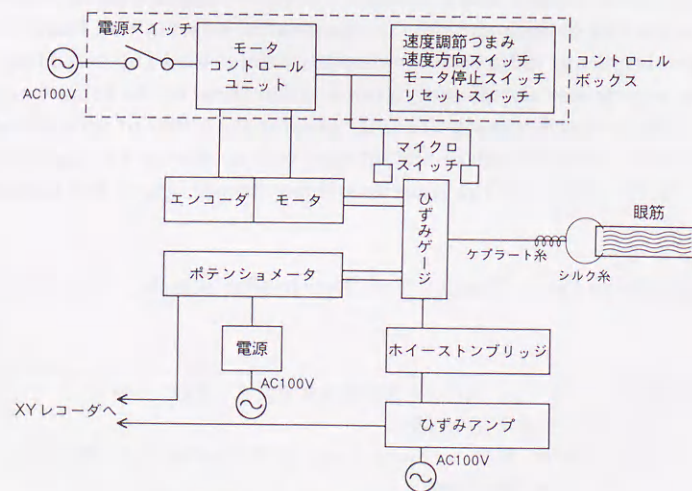


図2 外眼筋張力測定装置の系統図。

3. 測定装置の概要

本実験で使用した外眼筋張力測定装置は、著者が三菱電機と共同で開発したものでメインユニット、固定台、制御部および X-Y レコーダーからなる。実際の測定の様子を図1に、系統図を図2に示す。眼筋の張力はシルクおよび瞬間接着剤で固めたケブラート糸を介して、メインユニット上のりん青銅板に伝えられる。このりん青銅板には直線性の優れたひずみゲージが取り付けられており、高い精度で張力を測定できる。また、遊星ギア内蔵の DC サーボモーター(ハーモニックドライブシステムズ RH-5) が回転することにより、りん青銅板は前後方向に移動し眼筋を牽引できるようになっている。安全のため設定変位量を超えると自動的にモーターが停止するようマイクロスイッチを設けている。家兎固定台と本装置の位置決めを最初に行えば、以後眼球を中心に常に半径 30 cm の円周上に装置は動き、上下の角度も自由に可変できるよう工夫されているため、周囲組織の影響を受けず本来の筋の作用方向と同一方向に牽引することが可能となっている。りん青銅板と連動するポテンショメーターの出力を X-Y レコーダー(グラフテック WX 1100)の X 軸に、ひずみゲージの出力をひずみアンプ(共和電業 DPM 611-A)で増幅した後 Y 軸に入力しリアルタイムで伸長—張力曲線の記録を行った。

測定装置自体は比較的精度の高いものができたが眼筋と装置とを結ぶ糸が問題であった。荷重をかけると糸自身にも伸びが生じ場合によっては無視できない値となる。そこで大型引っ張り試験機を使用してシルク、ナイロン、エナメル、ケブラートの各糸で太さ、長さ、結び方を変えて検討したところ、グラスファイバーのより線であるケブラートが最も特性が優れていたがより線であるため線維間のすべりがあり若干の伸びがみられた。そこで全長にわたり瞬間接着剤で固め、眼筋との接続に 3.0 cm のみ 4-0 シルク糸を使用することにより糸自身の伸びはほぼ無視できる値となった。

4. 測定条件

ひずみ速度、弾性限界、再現性の観点から 4 つの測定条件とした。すなわち、最大張力が 50 g で牽引速度は 0.2 mm/sec, 1.0 mm/sec, 2.0 mm/sec, および最大張力が 100 g で牽引速度 0.2 mm/sec の 4 通りで、再現性をみるため全例で 2 回以上測定を繰り返した。

5. 記録解析

伸長—張力曲線は張力 0 g から最大張力に達するまで牽引している間の伸長相と、再び元の位置に戻す際

に得られる回帰相の 2 本の曲線からなり、前者を上昇曲線、後者を回復曲線と呼ぶことにする。今回の記録の解析には上昇曲線を用いて以下の 2 つの指標について検討することにした。

1) 粘弾性抵抗 (passive load)

実際の測定曲線を図3に示すが、同様の曲線の解析を行った五十嵐ら³⁾の方法に準じた。すなわち、上昇曲線は牽引初期には傾きがほぼ一定で直線とみなされるがそれを過ぎると指数関数的に張力が増大する。特に張力 10 g までは各筋で測定条件によらず直線に近似されたため、張力 0 g と 10 g とを結んだ直線 K を作図し、その傾き k (単位 g/mm) を粘弾性抵抗の指標とした。

2) 伸長性 (compliance)

上昇曲線全相について非線形最適化法により $y = a(e^{bx} - 1)$ という指数関数のあてはめを行いうまく近似することができた。この関数は弾性学の分野では生体の軟組織の特徴を表わす式⁶⁾として一般に用いられており、特に定数 b は曲線を決定づける重要な値とされている。今回この定数 b の逆数を取り伸長性 (単位 mm/g) の指標とした。

III 結 果

測定により得られた伸長—張力曲線はいずれの筋も指数関数様の曲線を描いた。2 度目の測定時には上昇曲線はわずかに右へシフトしたものの、最大張力をかけたときの筋の長さ、および回復曲線はほぼ一致した(図3)。これは各筋、各測定条件でほぼ同様の傾向を示した。そこで再現性は得られたものとして 1 度目の

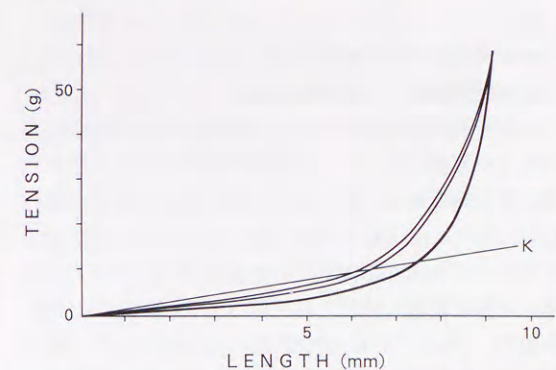


図3 実際の測定曲線(上直筋)。測定を 2 度行っているため上昇曲線にはわずかながら右へのシフトがみられるが、回復曲線はほぼ同一の軌跡をたどっている。直線 K は張力 10 g までの近似直線。

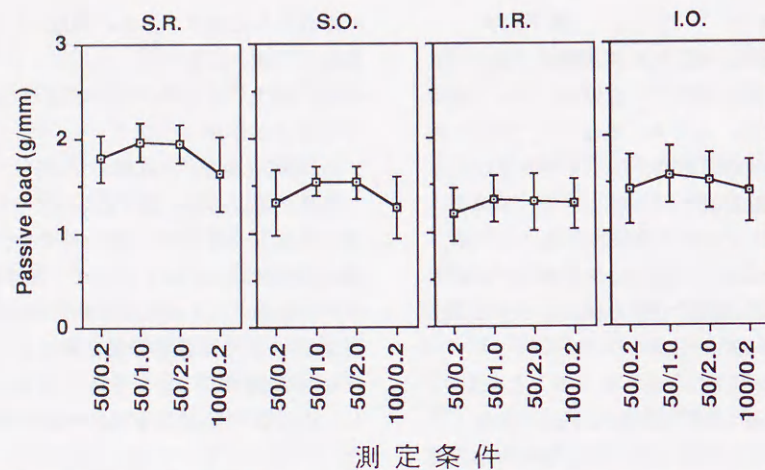


図4 各筋での測定条件（最大張力 g/牽引速度 mm/sec）と粘弾性抵抗（passive load）の関係。左から上直筋（S.R.），上斜筋（S.O.），下直筋（I.R.），下斜筋（I.O.）。

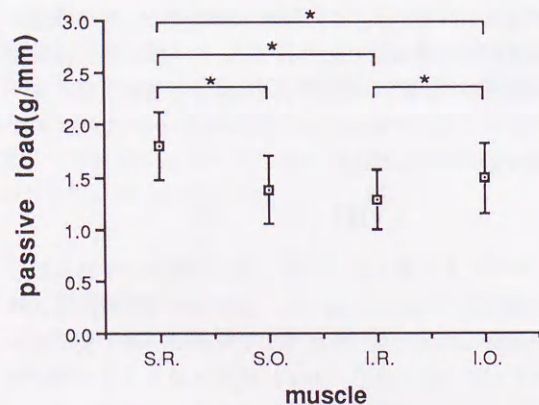


図5 各筋の粘弾性抵抗の比較。
★：Wilcoxon test, $p < 0.01$

曲線を用いて記録の解析を行った。

1. 粘弾性抵抗（passive load）

それぞれの筋について4つの測定条件で測定値に差があるかを調べたところ、図4に示すようにいずれの筋も牽引速度および最大張力で統計学的に有意な差はなかった（Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$ ）。そこでそれぞれの筋で4つの測定条件の測定値をプールして各筋の粘弾性抵抗を比較した（図5）。上直筋、上斜筋、下直筋、下斜筋の粘弾性抵抗（g/mm）はそれぞれ 1.80 ± 0.32 （平均±標準偏差, $n=62$ ）， 1.38 ± 0.32 （ $n=60$ ）， 1.28 ± 0.29 （ $n=49$ ）， 1.48 ± 0.34 （ $n=48$ ）であり上直筋は他の3筋に比べ、また下斜筋は下直筋に比べ粘弾性抵抗が有意に大きかった（Wilcoxon test, $p <$

0.01）。

2. 伸長性（compliance）

粘弾性抵抗と同様にそれぞれの筋について4つの測定条件で測定値に差があるかを調べたところ、図6のように下直筋と下斜筋では測定条件による差はなかった（Kruskal-Wallis test, $p > 0.05$ ）ものの、上直筋と上斜筋では測定条件によって測定値に有意な差がみられた（Kruskal-Wallis test, $p < 0.01$ ）。測定条件により有意差がみられたため伸長性の比較は同一測定条件下の値で行った。最大張力 50 g、牽引速度 0.2 mm/sec の条件下で上直筋、上斜筋、下直筋、下斜筋の伸長性（mm/g）はそれぞれ 1.72 ± 0.22 （平均±標準偏差, $n=21$ ）， 1.61 ± 0.20 （ $n=20$ ）， 2.30 ± 0.43 （ $n=15$ ）， 2.08 ± 0.23 （ $n=14$ ）であり上直筋と上斜筋の間、および下直筋と下斜筋の間で有意差がない（Wilcoxon test, $p > 0.05$ ）ものの、他の4通りの組み合わせの筋の間では有意差がみられた（Wilcoxon test, $p < 0.01$ ）。最大張力 50 g、牽引速度 1.0 mm/sec ではそれぞれ 1.49 ± 0.12 （ $n=10$ ）， 1.37 ± 0.15 （ $n=10$ ）， 2.21 ± 0.45 （ $n=9$ ）， 1.97 ± 0.28 （ $n=9$ ）であり上直筋と上斜筋の間、および下直筋と下斜筋の間で有意差がなく（Wilcoxon test, $p > 0.05$ ）。他の4通りの組み合わせの筋の間では有意差がみられた（Wilcoxon test, $p < 0.05$ ）。最大張力 50 g、牽引速度 2.0 mm/sec ではそれぞれ 1.44 ± 0.10 （ $n=10$ ）， 1.34 ± 0.13 （ $n=10$ ）， 2.08 ± 0.39 （ $n=10$ ）， 1.92 ± 0.25 （ $n=11$ ）でやはり上直筋と上斜筋の間、および下直筋と下斜筋の間で有意差がなく（Wilcoxon test, $p > 0.05$ ）。他の4通りの組み合わせの筋

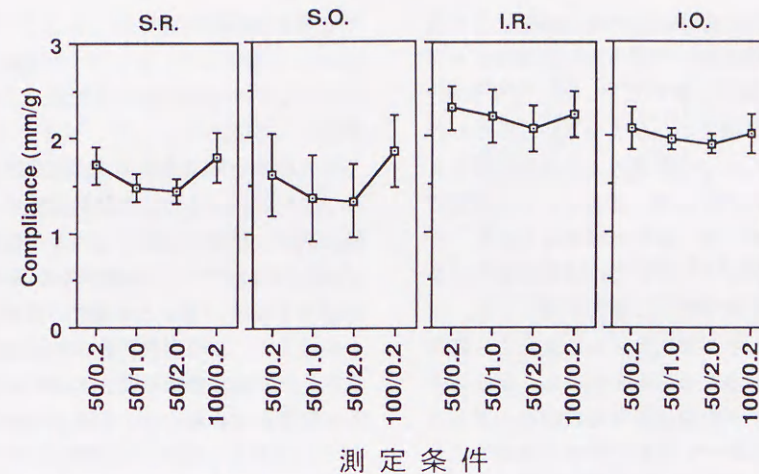


図6 各筋での測定条件（最大張力 g/牽引速度 mm/sec）と伸長性（compliance）の関係。左から上直筋（S.R.），上斜筋（S.O.），下直筋（I.R.），下斜筋（I.O.）。

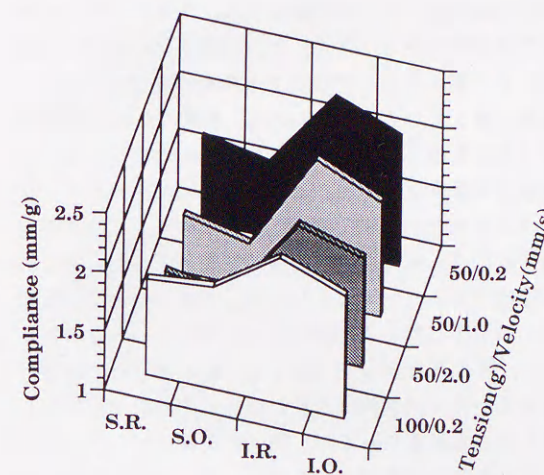


図7 各測定条件下での各筋の伸長性の比較。平均値を3次元的に表わした。S.R.：上直筋，S.O.：上斜筋，I.R.：下直筋，I.O.：下斜筋

の間で有意差がみられた（Wilcoxon test, $p < 0.05$ ）。そして最大張力 100 g、牽引速度 0.2 mm/sec ではそれぞれ 1.80 ± 0.21 （ $n=21$ ）， 1.86 ± 0.26 （ $n=20$ ）， 2.23 ± 0.38 （ $n=15$ ）， 2.03 ± 0.25 （ $n=14$ ）となり上直筋と下直筋の間で有意差がある（Wilcoxon test, $p < 0.05$ ）ものの、他の5通りの組み合わせの筋の間では有意差がなかった（Wilcoxon test, $p > 0.05$ ）（図7）。

IV 考 按

外眼筋張力の測定には大きく分けて2つの流れがある。すなわち Scott ら²⁾を中心とした外眼筋を切り離すことなく鉗子等で回転させるいわゆる forced duction test の定量化といえる方法³⁾⁴⁾。および Simonsz ら⁵⁾による外眼筋を眼球付着部で切り離し眼筋単独の張力を測定する方法である。今回著者は各外眼筋単独の特性を明らかにするために、また種々の条件下、特に弾性限界を越えた特性も検討するために人眼と同様に上下の直筋および斜筋を有し、これまでの報告にみられなかった家兎を用いて外眼筋を眼球付着部で切り離して測定を行った。

眼筋を牽引する方向は重要で結果を大きく左右する。周囲組織の影響を受けず眼筋単独の張力のみをいかにして測定するかは難しい問題であった。特に眼筋露出手術の際にテノンをどの程度剥離するかにより測定曲線は敏感に影響を受けた。そこで、眼筋に付着した周囲組織は可能な限り、しかも同一条件となるように注意しながら剥離した。また、牽引方向は眼筋の走行と平行で眼球付着部を延長した方向とし、本来の眼筋の作用方向と一致するように測定装置のメインユニットの位置決めを行った。

実際の測定曲線（図3）は牽引し荷重を加えていく時の上昇曲線と、再び元の長さに戻ってくる時の回復曲線の2つの曲線からなっている。回復曲線は上昇曲線とは異なった曲線を描くが、このような現象を

hysteresis と呼び変形を受ける弾性体の特徴とされている。上昇曲線と回復曲線とで囲まれた面積はこの系の仕事で消費された損失を表わしている。五十嵐ら³⁾が記録した曲線に比べ損失がかなり小さいことがわかる。これは五十嵐らは6つの眼筋および周囲組織をまとめて測定しているのに対して、著者は1つの眼筋でしかも周囲組織を剝離しているためと考えられる。また、上昇曲線は張力10gあたりまではほぼ直線的であるがそれを過ぎると指数関数的に張力が増大した。これは筋の collagen fiber が弾性体として機能する範囲を越えて引き伸ばされるためと考えられる。弾性体として機能する限界の長さを弾性限界と呼び五十嵐らは上昇曲線に変曲点を認めているが、著者の結果ではなめらかに移行し弾性限界といえる変曲点は記録されなかった。これも先に述べたように測定方法の差によるものと考えられる。一方、Simonsz ら⁵⁾は人眼の付着部で切り離した眼筋で伸長—張力曲線を測定し linear,あるいは上に凸であったと報告しているが、これには周囲組織の抵抗が少なからず影響しているのではないと思われる。

測定により得られた伸長—張力曲線は非線形であるためにその評価は難しい。4つの眼筋それぞれでわずかな違いはあるものの、全体としてはほぼ同様の曲線を描いたため同一のモデル関数で評価できると考えた。そこで上昇曲線のうちほぼ直線とみなされる部分には $y=kx$ 、曲線全体としては $y=a(e^{bx}-1)$ という関数をあてはめ評価することにしたのである。まず、比例定数 k を指標とした粘弾性抵抗であるが、先に述べたように五十嵐らの報告にあるような変曲点をもった曲線であれば容易に近似直線 K を引きその傾き k を求めることができる。一方、著者のデータのように変曲点をもたない場合、必ずしもうまく近似できたとはいえないかもしれない。しかし、明らかに筋が弾性として機能している範囲内であり客観性をもたせるために、張力10gまでは Hooke の法則に従うとみなし比例定数 k を求め粘弾性抵抗として評価した。この比例定数 k は力学的にはヤング率、あるいはバネ定数とも呼ばれ弾性体の性質を表わす指標で、実際に我々が手術時に感じる手ごたえは主にこの粘弾性抵抗であるといえよう。牽引速度を可変しても測定値に差がなかったがこれは生体軟組織の特徴として知られているところである⁶⁾。最大張力が50gと100gとでも差がなかったが張力10gまでを評価しているため当然といえる結果であろう。各眼筋間の比較では上直筋が他

の3筋より粘弾性抵抗が大きく、下斜筋が下直筋より大きいという結果となった。上直筋と下斜筋という眼球を上転させる筋で粘弾性抵抗が大きいという大変興味深いものである。

上昇曲線全体は先に与えた指数関数 $y=a(e^{bx}-1)$ にうまく近似できた。生体軟組織のうち大動脈、腸間膜、皮膚、尿管、心筋などはこの指数関数に従うことが知られており⁶⁾、今回我々が記録した曲線がうまく近似できたということは測定の妥当性を物語っているといえよう。この指数関数は主に定数 b によって規定され、わずかな曲線の違いも正確に定数 b に反映される。定数 b は曲線全体の特徴を表わし、その逆数 $1/b$ は一定張力となる時の変位量を示すことから $1/b$ を伸長性 (compliance) の指標とした。上直筋および上斜筋では測定条件により測定値に差がみられた。牽引速度に依存しないとされているため測定上の誤差と考えるべきであろうか。再現性については先に述べたが測定を繰り返すと上昇曲線は右に、すなわち伸びが増大する方向にシフトした。これは筋自体の伸びは勿論のこと、筋と糸とのすべりや糸自身の伸びなどのすべてを反映していると考えられる。参考のために最高10回の測定を繰り返したところシフト幅は次第に減少し収束する傾向にあった。この場合、回復曲線にもシフトはみられたが上昇曲線に比して小さく、2度測定を繰り返し得られた曲線と同様の傾向であった。そこで再現性は得られたものとしたが、こうしたわずかな誤差が測定値に差として現われたのではないかと考えられる。最大張力50gと100gとで差があったのは弾性限界を越えて引き伸ばされたために筋の組成が変化したものとも考えられるが、同一の条件下でも下直筋および下斜筋では差がみられなかったことから正確なところは明らかではない。同一測定条件とした上での各筋間の比較では、最大張力50gの場合いずれの牽引速度でも上直筋と上斜筋の間で差がなく、下斜筋と下直筋の間で差がないもののこれら2群の間では有意な差がみられた。奇しくも上直筋、上斜筋という眼球の上方に付着する筋よりも下直筋、下斜筋という眼球の下方に付着する筋の方が伸長性が大きいという興味深い結果が得られた。最大張力100gでは上直筋と下直筋の間でのみ差がみられたが、これも弾性限界を越えてしまったためにやや異なった結果になったものと思われる。

以上、外眼筋張力測定装置を用いて白色家兎の外眼筋における受動的伸長—張力曲線を記録した。粘弾性

抵抗、伸長性について筋による差がみられたがその理由については更なる検討を要する。これを解明するには弾性体のモデルを想定することが役立つが、その場合には筋の長さや断面積が必要となるであろう。またその一方で、眼筋の構成線維の組成の違いや、牽引時の筋の組織学的な変化なども解明してみれば更に新たな事実が明らかとなるであろう。臨床的には、経験的に行われることが多い斜視手術において定量的に筋の張力を測定することは、客観的に術量を決定する上で非常に有効であると思われる。

稿を終えるにあたり、御懇篤なる御指導、御校閲いただいた恩師松尾信彦教授に深謝いたします。また直接御指導いただいた大月 洋助教授に感謝いたします。本論文の要旨は第95回日本眼科学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Robinson DA, O'Meara DM, Scott AB, et al:

Mechanical components of human eye movements. J Appl Physiol 26: 548—553, 1969.

- 2) Scott AB, Collins CC, O'Meara DM: A forceps to measure strabismus forces. Arch Ophthalmol 88: 330—333, 1972.
- 3) 五十嵐保男, 竹田 真, 沢 正博: 覚醒下における正常ヒト外眼筋の機械的特性に関する研究. 札幌医誌 54: 569—581, 1985.
- 4) Iwashige H, Ishida T, Koike N, et al: Measurements of active and passive force of horizontal muscles in strabismus. Jpn J Ophthalmol 32: 223—235, 1988.
- 5) Simonsz HJ, Kolling GH, van Dijk B, et al: Length-tension curves of human eye muscles during succinylcholine-induced contraction. Invest Ophthalmol Vis Sci 29: 1320—1330, 1988.
- 6) 岡 小天: レオロジー—生物レオロジー—. 東京, 常華房, 454—456, 1974.



主論文

外眼筋の機械的特性に関する研究

第2報 ボツリヌス毒素注入外眼筋における受動的伸長—張力特性

岡 野 正 樹

岡山大学医学部眼科学教室

Passive Length-Tension Curves of Extraocular Muscles after
Botulinum Toxin Injection

Masaki Okano

Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

日本眼科学会雑誌 97(2) : 150—155, 平成5年
Acta Soc. Ophthalmol. Jpn. 97(2) : 150—155, 1993

外眼筋の機械的特性に関する研究

第2報 ボツリヌス毒素注入外眼筋における受動的伸長—張力特性

岡野 正樹

岡山大学医学部眼科学教室

要 約

ボツリヌス A 型毒素の外眼筋におよぼす影響を検討するために、白色家兎の上直筋に本毒素を注射した。毒素注射後 3 日から 4 週目に、外眼筋張力測定装置を用いて眼球付着部で切り離した上直筋の伸長—張力曲線を連続的に記録した。本装置は著者が開発したもので受動的に引き伸ばされた外眼筋の張力を測定するひずみゲージと、小型モーターと連動し変位量を検出するポテンシオメーターからなる。毒素注入群の粘弾性抵抗は対照群に比べて 1 週目で有意に小さかったが、2 週目、3 週目では逆に大きかった。毒素注入群の伸長性は対照群に比べて 3 週目で有意に小さかった。(日眼会誌 97:150—155, 1993)

キーワード: ボツリヌス毒素, 伸長—張力曲線, 上直筋, 粘弾性抵抗, 伸長性

Passive Length-Tension Curves of Extraocular Muscles after Botulinum Toxin Injection

Masaki Okano

Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School

Abstract

Botulinum A toxin was injected into the superior rectus muscles of albino rabbits. Length-tension curves of detached superior rectus muscles were continuously measured with a length and tension measuring device developed by the author. The device consists of a strain gauge for measuring passive length-tension, and a position encoder equipped with an eddy current motor. The passive load of the muscle injected with Botulinum A toxin was significantly less than that of control muscle a week after the injection, however, it was greater than that of control muscle in 2 or 3 weeks after the injection. The compliance of the treated muscle was significantly less than that of control muscle at 3 weeks after the injection. (J Jpn Ophthalmol Soc 97:150—155, 1993)

Key words: Botulinum toxin, Length-tension curve, Superior rectus muscle, Passive load, Compliance

I 緒 言

近年、斜視治療において神経毒であるボツリヌス A

型毒素を外眼筋に注射し、眼位矯正に応用しようという試みが行われつつある。しかしながら、従来の報告例^{1)~7)}では臨床的な効果判定に終始するものが多く、

別刷請求先: 700 岡山市鹿田町 2—5—1 岡山大学医学部眼科学教室 岡野 正樹
(平成 4 年 5 月 27 日受付, 平成 4 年 7 月 27 日改訂受理)

Reprint requests to: Masaki Okano, M.D. Department of Ophthalmology, Okayama University Medical School, 2-5-1 Shikata-cho, Okayama 700, Japan

(Received May 27, 1992 and accepted in revised form July 27, 1992)

平成 5 年 2 月 10 日

目的とする外眼筋単独に与える影響については、その作用機序を含めて未だ明らかではない。著者は外眼筋を眼球付着部で切り離した後、小型モーターで牽引することにより、外眼筋単独の伸長—張力特性を定量的に測定する方法を考案し先に発表した⁸⁾。今回、この測定装置を用いてボツリヌス A 型毒素を白色家兎の外眼筋に注射した場合の張力変化を経時的に記録し、外眼筋におよぼす影響を定量的に検討したので報告する。

II 実験方法

1. 実験材料

実験動物には成熟白色家兎(体重 2.1~4.5 kg)25 匹を用いた。

2. 実験手順

1) ボツリヌス毒素の注射

押田式家兎固定器(KN-317, 夏目製作所)に家兎を固定し、2%リドカインで点眼麻酔および上、下眼瞼に浸潤麻酔を行った。眼球をわずかに下転させ、直視下にて 1 眼の上直筋にボツリヌス A 型毒素(Oculinum)を 5 単位(0.1 ml)経結膜的に注射した。他眼の上直筋には生理食塩水を同量注射し対照とした。毒素注射後 3 日、1 週、2 週、3 週、4 週目に各 5 匹ずつ張力測定を行った。

2) 伸長—張力曲線の記録

剃毛した耳静脈に 22 ゲージの静脈用カテーテル(エ

ラスター針)を留置し耳静脈を確保した後、麻酔薬としてペントバルビタールナトリウム 20 mg/kg を約 3 分かけて静注した。家兎固定台に伏臥位にて四肢および頭部を十分に固定した後、眼球結膜を角膜輪部近くで切開し上直筋を露出させた。上直筋を周囲組織から十分に剝離、4-0 シルク糸を斜視手術の要領で眼筋の先端部にかけた後、眼球付着部で切断した。4-0 シルク糸(3.0 cm)はケブラート糸(27.0 cm)を介して外眼筋張力測定装置に接続し、張力 0 g から最大張力 40 g に達するまで低速度(0.2 mm/sec)で牽引した後、再び張力 0 g に戻るまでの伸長—張力曲線を記録した。なお、再現性を確かめるために測定は 2 度繰り返した。

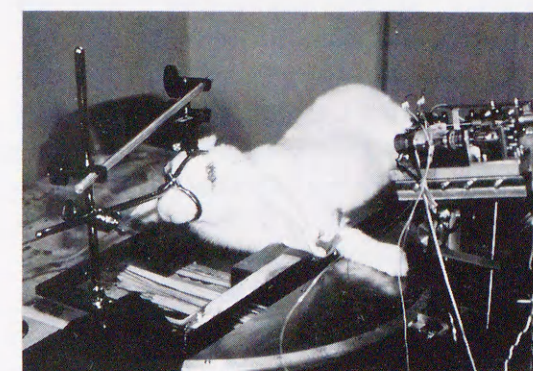


図 1 実際の測定の様子。

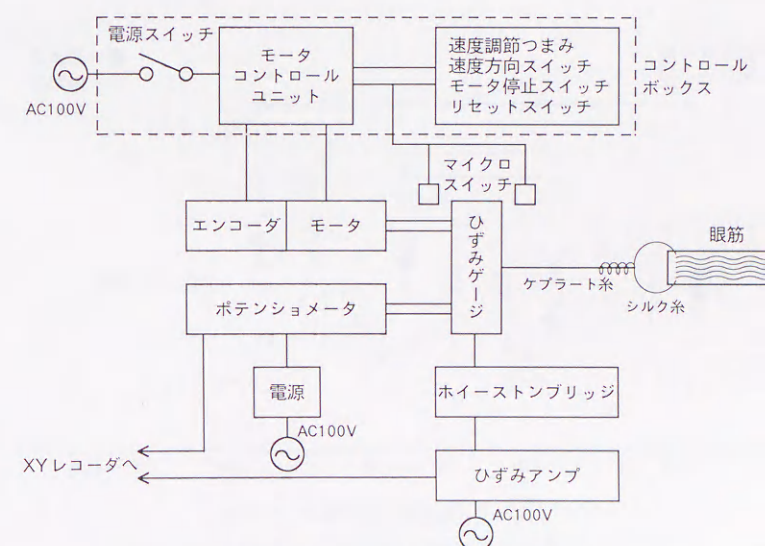


図 2 外眼筋張力測定装置の系統図。

3. 測定装置の概要

本実験で使用した外眼筋張力測定装置は、著者が三菱電機と共同で開発したもので本体、固定台、制御部およびX-Yレコーダーからなる。実際の測定の様子を図1に、系統図を図2に示す。眼筋の張力はシルク糸および瞬間接着剤で固めたケプラート糸を介して、本体上のりん青銅板に伝えられる。このりん青銅板には直線性の優れたひずみゲージが取り付けられており、高い精度で張力を測定できる。また、遊星ギア内蔵のDCサーボモーター（ハーモニックドライブシステムズRH-5）が回転することにより、りん青銅板は前後方向に移動し眼筋を牽引するという仕組みである。安全のため設定変位量を超えると自動的にモーターが停止するようマイクロスイッチを設けてある。家兎固定台と本装置の位置決めを最初に行えば、以後眼球を中心に常に半径30cmの円周上に装置は動き、上下の角度も自由に可変できるよう工夫されているため、周囲組織の影響を受けず本来の筋の作用方向と同一方向に牽引することが可能である。りん青銅板と連動するポテンショメーターの出力をX-Yレコーダー（グラフテックWX1100）のX軸に、ひずみゲージの出力をひずみアンプ（共和電業DPM611-A）で増幅した後Y軸に入力し実時間で伸長-張力曲線の記録を行った。

4. 記録解析

伸長-張力曲線は張力0gから最大張力に達するまで牽引している間の伸長相と、再び元の位置に戻る際

に得られる回帰相の2本の曲線からなり、前者を上昇曲線、後者を回復曲線と呼ぶことにする。今回の記録の解析には上昇曲線を用いて以下の2つの指標について検討することにした。

1) 粘弾性抵抗 (passive load)

実際の測定曲線を図3に示すが、同様の曲線の解析を行った五十嵐ら⁹⁾の方法に準じた。すなわち、上昇曲線は牽引初期には傾きがほぼ一定で直線とみなされるがそれを過ぎると指数関数的に張力が増大する。特に張力10gまでは直線に近似されたため、張力0gと10gとを結んだ直線Kを作図しその傾きk（単位g/mm）を粘弾性抵抗の指標とした。

2) 伸長性 (compliance)

上昇曲線全相について非線形最適化法により $y=a$

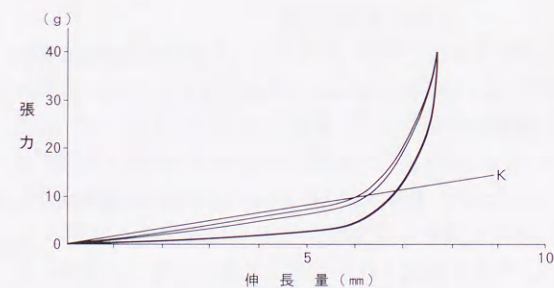


図3 実際の測定曲線。

測定を2度行っているため上昇曲線はわずかながら右へのシフトがみられるが、回復曲線はほぼ同一の軌跡をたどっている。直線Kは張力10gまでの近似直線。

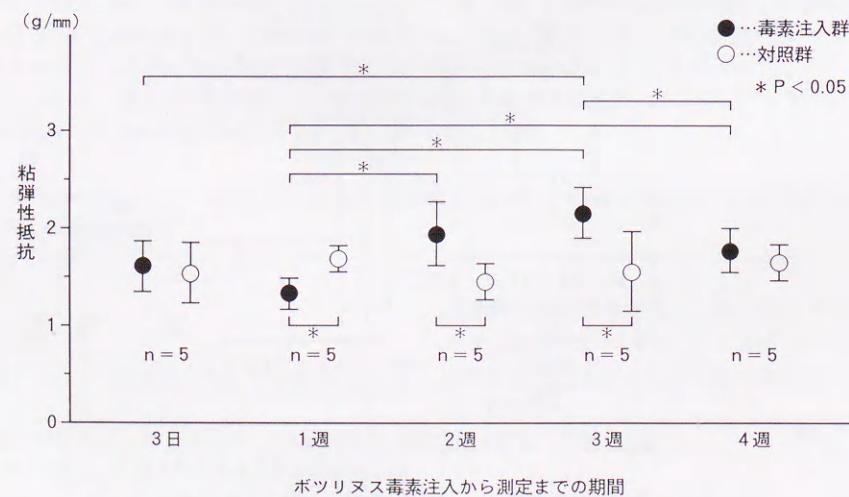


図4 ボツリヌス毒素注入から測定までの期間と粘弾性抵抗。
平均値±標準偏差

($e^{bx}-1$) という指数関数のあてはめを行いうまく近似することができた。この関数は弾性学の分野では生体の軟組織の特徴を表わす式¹⁰⁾として一般に用いられており、特に定数bは曲線を決定づける重要な値とされている。この定数bの逆数を取り伸長性(単位mm/g)の指標とした。

III 結果

毒素注射の翌日から最終測定日である4週目まで、ほぼ全例に眼瞼下垂を認めた。

測定により得られた伸長-張力曲線は毒素注入群も対照群も指数関数様の曲線を描いた。2度目の測定時には上昇曲線はわずかに右ヘシフトしたものの、最大張力をかけたときの筋の長さ、および回復曲線はほぼ一致した(図3)。これは毒素注入から測定までの期間によらずほぼ同様の傾向を示した。そこで再現性は得られたものとして1度目の曲線を用いて記録の解析を行った。

1. 粘弾性抵抗 (passive load)

毒素注入群、対照群の粘弾性抵抗(g/mm)は3日目でそれぞれ 1.62 ± 0.27 (平均値±標準偏差, $n=5$), 1.54 ± 0.31 , 1週目 1.33 ± 0.14 , 1.69 ± 0.10 , 2週目 1.93 ± 0.32 , 1.44 ± 0.18 , 3週目 2.16 ± 0.26 , 1.55 ± 0.41 , 4週目 1.77 ± 0.22 , 1.64 ± 0.17 であった。1週目で毒素注入群が対照群に比べて統計的に有意に小さかった(t-test, $p < 0.05$)。2週目、3週目では逆に有

意に大きかった(t-test, $p < 0.05$)。3日目、4週目では有意な差はなかった(t-test, $p > 0.05$) (図4)。

2. 伸長性 (compliance)

毒素注入群、対照群の伸長性(mm/g)は3日目でそれぞれ 1.75 ± 0.13 (平均値±標準偏差, $n=5$), 1.76 ± 0.27 , 1週目 1.90 ± 0.31 , 2.21 ± 0.60 , 2週目 2.09 ± 0.36 , 1.94 ± 0.35 , 3週目 1.84 ± 0.09 , 2.10 ± 0.15 , 4週目 1.73 ± 0.26 , 1.98 ± 0.29 であった。3週目で毒素注入群が対照群に比べて統計的に有意に小さかった(t-test, $p < 0.05$)。3日、1週、2週、4週目では有意な差はなかった(t-test, $p > 0.05$) (図5)。

IV 考 按

ボツリヌス毒素はボツリヌス菌(*Clostridium botulinum*)によって産生される複合蛋白である。その抗原性からA-Gの7型が同定、精製されている。この内A型毒素は安定した形で結晶させることができ、筋麻痺を起こすのに強い力をもっていると考えられる。いずれの型も神経毒性が強く、ボツリヌス食中毒、乳児ボツリヌス症、創傷ボツリヌス症などが臨床的に知られており、眼科的症状としては視力低下、調節麻痺、外眼筋麻痺、眼瞼下垂、瞳孔散大などが知られている。

ボツリヌス毒素の作用機序としては、神経筋接合部でアセチルコリンの運動神経終末からの遊離を阻止することによると考えられている。この場合、アセチルコリンの放出部位を特異的に封鎖するのではなく、細

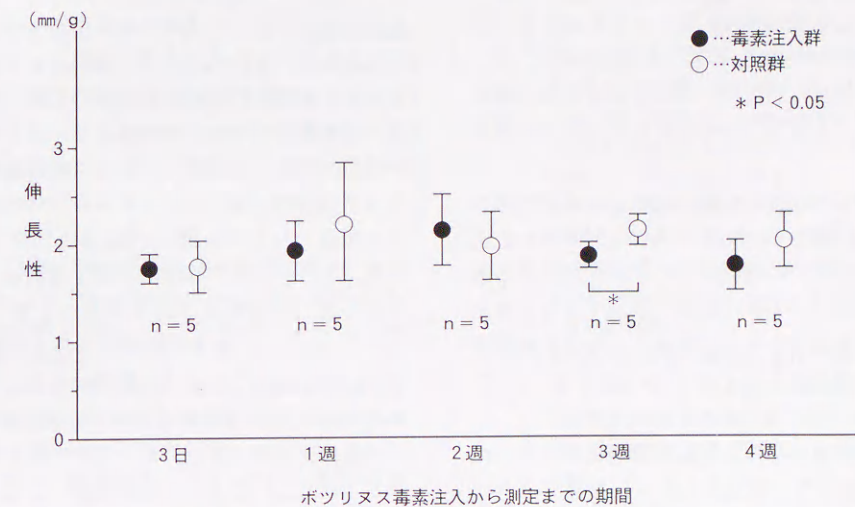


図5 ボツリヌス毒素注入から測定までの期間と伸長性。
平均値±標準偏差

胞内に進入し酵素的に作用するという Simpson¹¹⁾の説が有力である。また、神経筋に対する麻痺作用は永続的でなしに回復がみられることが多く、Duchen¹²⁾は運動神経末端部からの発芽 (sprouting) によると推測しているが、その詳細は作用機序とともに未だ解明されていない。

ボツリヌス毒素の筋肉麻痺作用に注目した Scott¹³⁾は、眼科的に臨床応用することを 1970 年代後半に発表し、以後海外を中心として眼瞼痙攣や斜視の治療における有効性が確認されつつある。我が国でも岩重^{3)~5)}、木村⁶⁾、大庭⁷⁾を中心として臨床応用が進められつつある。しかしながら、これらの報告の多くは臨床的なものであったために、眼筋単独の詳細なデータを得ることは難しかった。そこで、今回著者はボツリヌス毒素が外眼筋の張力特性におよぼす影響を明らかにするために、先に報告⁸⁾した眼筋張力測定装置を用いて、これまでの報告にみられなかった家兎の外眼筋に毒素を注入し、その後眼球付着部で切り離して張力変化を経時的に測定した。

測定方法および解析方法は第 1 報⁸⁾にならうこととした。この測定方法は周囲組織の影響を受けず、本来の筋の作用方向と同一方向に筋を牽引することができるという特徴をもっており、正常白色家兎の上直筋、上斜筋、下直筋、下斜筋の粘弾性抵抗と伸長性については先に報告したところである。また、この第 1 報では測定条件として弾性限界、ひずみ速度、再現性の観点から検討し、筋肉を牽引する条件として最大張力 50 g、牽引速度 0.2 mm/sec で再現性がよいことを確認した。今回はさらに生理的条件に近いと思われる最大張力 40 g、牽引速度 0.2 mm/sec という測定条件にした。毒素を注入する筋については、第 1 報の測定時に結果が安定しており、手術操作が容易と思われる上直筋に限定した。

測定により得られた伸長—張力曲線は非線形であるためにその評価は難しい。毒素注入群、対照群のいずれも注入から測定までの期間によらず、ほぼ同様の曲線を描いたため同一のモデル関数で評価できると考えた。そこで上昇曲線のうちほぼ直線とみなされる部分には $y=kx$ 、曲線全体としては $y=a(e^{bx}-1)$ という関数をあてはめ評価することにしたのである。

まず、比例定数 k を指標とした粘弾性抵抗については、五十嵐⁹⁾のように変曲点をもった曲線であれば容易に近似直線 K を引き、その傾き k を求めることができるであろうが、著者のデータのように変曲点を

たない場合、必ずしもうまく近似できたとはいえないかもしれない。しかし、明らかに筋が弾性として機能している範囲内であり客観性をもたせるために、張力 10 g までは Hooke の法則に従うとみなし比例定数 k を求め粘弾性抵抗として評価した。この比例定数 k は力学的にはヤング率、あるいはバネ定数とも呼ばれ弾性体の性質を表わす指標で、実際に我々が手術時に感じる手ごたえは主にこの粘弾性抵抗であるといえよう。

毒素注入から 3 日目では対照群との間に有意な差はなかったが、1 週目では対照群より粘弾性抵抗が有意に小さかった。ところが、2 週目、3 週目になると逆に対照群より有意に大きいという結果が得られた。そして、4 週目になると再び対照群と有意な差がなくなった。この結果の解釈にあたっては筋線維、神経筋接合部を組織学的に検索した向野¹³⁾、Spencer¹⁴⁾の報告が参考になる。すなわち、サルの内直筋にボツリヌス A 型毒素を注射した向野¹³⁾は、注入から 6 日後に注射部位に一致して筋の萎縮があったとし、円形細胞の浸潤を認めたとしている。そして、注射から 45 日目には筋の萎縮はなく、細胞浸潤も認められないが、神経—筋接合部に近接して薄化した有髄神経線維および発芽を認めたと述べている。一方、同様にサルの内直筋にボツリヌス A 型毒素を注射した Spencer¹⁴⁾は、毒素注入から 14 日目に筋線維の中心部のミトコンドリアが周辺部に分散したことによる筋線維の肥厚を認めたとしている。そして、35 日目には発芽を認め、42~56 日目には筋線維はほぼ正常化したと述べている。これらの報告を著者の結果にあてはめると、1 週目でみられた張力低下は筋の萎縮によると考えられ、2 週目、3 週目の逆転は筋線維の肥厚が、そして、4 週目で有意差がなかったのは発芽による、と考えるのが妥当ではないであろうか。ネコの外眼筋にボツリヌス A 型毒素を注射し、サクシニルコリンで収縮させ張力を測定した Dennehy¹⁵⁾もほぼ同様の考察をしている。その一方で、臨床的には 1 週前後で張力の低下がみられ、その傾向が約 3 か月以上続くと考えられている^{3)~7)}。これらは患者に能動的に筋の収縮を促した張力 (active force) であり、著者のように受動的に筋を伸長させた張力 (passive load) とは性質が異なるだけに一概に比較はできないが、張力の経時的な変化に差がみられたという点で大変興味深いところである。

また、上昇曲線全体は先に与えた指数関係 $y=a(e^{bx}-1)$ にうまく近似できた。生体軟組織のうち大動

脈、腸間膜、皮膚、尿管、心筋などはこの指数関数に従うことが知られており¹⁰⁾、今回著者が記録した曲線がうまく近似できたということは測定の妥当性を物語っているといえよう。この指数関数は主に定数 b によって規定され、わずかな曲線の違いも正確に定数 b に反映される。定数 b は曲線全体の特徴を表わし、その逆数 $1/b$ は一定張力となる時の変位量を示すことから $1/b$ を伸長性 (compliance) の指標とした。毒素注入から 3 週目で対照群に比べ有意に小さかったが、3 日、1 週、2 週、4 週目では有意な差はなかった。3 週目で伸長性が小さかったのは、粘弾性抵抗のところでも述べたように筋線維の肥厚が最も考えられる。しかし、張力 10 g までを評価した粘弾性抵抗に対して 1 週目、2 週目でも有意差がみられなかったことから、曲線全体からみるとボツリヌス毒素の影響はそれほど大きいものではないと思われる。言い替えれば、本毒素はどちらかと言えば張力の小さな部分の微細な筋線維の組成に影響を与えやすいのではなかろうか。

最後に、粘弾性抵抗および伸長性で得られた有意差は、純粋に筋肉の張力特性の変化を示唆しているのか、それとも手術操作を含めた測定系の要因によるのかは明らかではない。しかしながら、ボツリヌス毒素が眼筋の張力特性に変化を与えることは確かであろう。その場合の眼筋張力変化は、注入から 1 週前後で発現し経時的に変化するということが明らかになった。この結果を踏まえて、臨床的には眼瞼痙攣や斜視などの治療にボツリヌス毒素の応用が期待される。

稿を終えるにあたり、御懇篤なる御指導、御校閲いただいた恩師松尾信彦教授に深謝いたします。また直接御指導いただいた大月 洋助教授、ボツリヌス毒素 (Oculinum) を快く提供して下さった帝京大学眼科岩重博康助教授、多大なる技術援助を頂いた三菱電機中央研究所武谷知明氏に感謝します。本論文の要旨は第 96 回日本眼科学会総会にて発表した。

文 献

- 1) Scott AB: Botulinum toxin injection into extraocular muscles as an alternative to strabismus surgery. *Ophthalmology* 87: 1044—1049, 1980.
- 2) Scott AB: Botulinum toxin injection of the eye muscles to correct strabismus. *Trans Am Ophthalmol Soc* 79: 734—770, 1981.
- 3) 岩重博康, 丸尾敏夫: ボツリヌス A 型毒素

(Oculinum) による斜視治療, 日眼会誌 90: 1366—1374, 1986.

- 4) 岩重博康, 赤津史郎, 丸尾敏夫: Botulinum A 型毒素 (Oculinum) による眼性頭位異常の治療. *眼臨* 81: 951—961, 1987.
- 5) 岩重博康: ボツリヌストキシンの治療への応用. 筒井 純 (編): 眼科 Mook 35 神経眼科最近の進歩. 金原出版, 東京, 126—136, 1987.
- 6) 木村 久, 筒井 純, 深井小久子, 早川友恵: ボツリヌストキシン療法と斜視手術—ボツリヌストキシンの注入量の検討—. *臨眼* 83: 2298—2300, 1989.
- 7) 大庭正裕, 大井利明, 五十嵐保男: 国産 A 型ボツリヌストキシンによる眼科的臨床応用. *眼科手術* 5: 63—69, 1992.
- 8) 岡野正樹: 外眼筋の機械的特性に関する研究. 第 1 報. 白色家兎における受動的伸長—張力特性. *日眼会誌* 96: 295—301, 1992.
- 9) 五十嵐保男, 竹田 真, 沢 正博: 覚醒下における正常ヒト外眼筋の機械的特性に関する研究. *札幌医誌* 54: 569—581, 1985.
- 10) 岡 小天: レオロジー—生物レオロジー—. 常華房, 東京, 454—456, 1974.
- 11) Simpson LL: Molecular pharmacology of Botulinum toxin and tetanus toxin. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 26: 427, 1986.
- 12) Duchen LW: An electron microscopic study of the changes induced by botulinum toxin in the motor end-plates of slow and fast skeletal muscle fibers of the mouse. *J Neurol Sci* 14: 47—60, 1971.
- 13) Mukuno K, Scott AB, Ishikawa S: Histo-pathological study on the monkey extraocular muscles under botulinum toxin injection. In: Reinecke RD (Ed): *Strabismus II: Proceedings of the Fourth Meeting of The International Strabismological Association*, October 25—29, 1982, Grune & Stratton, Asilomar, California, Orlando, 707—710, 1984.
- 14) Spencer RF, McNeer KW: Botulinum toxin paralysis of adult monkey extraocular muscle. Structural alterations in orbital, singly innervated muscle fibers. *Arch Ophthalmol* 105: 1703—1711, 1987.
- 15) Dennehy PJ, Lingua RW, Li KF, Hernandez E, Feuer W: Succinylcholine-stimulated muscle tensions following botulinum injection in the domestic cat. *Exp Eye Res* 52: 445—449, 1991.

